

Temafloxacinの各種実験動物における吸収、分布および排泄

武田勝男・矢野 茂・佐久間由光・小山八重子・山口東太郎

田辺製薬株式会社生物研究所**

(*現 田辺製薬株式会社薬理研究所)

Temafloxacin (TMFX)のマウス、ラットおよびハムスターにおける体内動態について検討し以下の成績を得た。

1. 雌雄のラットにTMFXを経口投与した時、血漿中濃度と尿中排泄率に性差を認めなかった。
2. ラットにTMFX 10~100 mg/kg経口投与した時、血漿中濃度のAUCは用量依存的に増加した。
3. ラットにおけるTMFXの経口吸収率(経口/静注比較)は血漿中濃度のAUCから60%、尿中排泄率から76%と算定された。
4. マウスとラットにTMFX, ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX)を経口投与した時、血清中ピーク濃度はOFLX>TMFX>CPFXの順で、AUCはTMFX>OFLX>CPFXの順であった。また、肺組織中ピーク濃度はTMFX≥OFLX>CPFXの順で、AUCはTMFX>OFLX>CPFXの順であった。
5. ハムスターにTMFX, OFLX, CPFX, erythromycin(EM)を経口投与した時、血清中ピーク濃度とAUCはOFLX>TMFX>EM>CPFXの順であった。一方、肺組織中ピーク濃度はTMFX>OFLX>EM>CPFXの順で、AUCはTMFX>OFLX>CPFX>EMの順であった。また、TMFXの肺移行率(肺組織/血清)はOFLXの約2倍高い値であった。
6. ラットにTMFXを静脈内投与した時、髄液中の対血清比はOFLXの1/2~1/3と小さい値であった。
7. ラットにTMFX, OFLX, CPFXを経口投与した時、TMFXの尿中排泄率と胆汁中排泄率はCPFXより高くOFLXの排泄率に近い値であった。
8. TMFXの血清蛋白結合率はマウス 29.5%,ラット 34.1%,ウサギ 35.8%,イヌ 25.6%,サル 29.0%,ヒト 26.6%であった。

以上の成績から、TMFXの体内動態における特徴は1)経口吸収が良好で、2)肺組織への移行性に優れ、3)中枢系への移行が低いことが明らかとなった。

Key words : temafloxacin, キノロン剤, マウス, ラット, ハムスター体内動態

Temafloxacin (TMFX)は米国アボット社 (Abbott Lab., North Chicago) で合成された新規なニューキノロン系抗菌剤である。本剤はグラム陽性菌, グラム陰性菌, 嫌気性菌, 細胞内寄生菌に優れた抗菌力を示す^{1,2)}。

本論文ではTMFXの体内動態における特徴を明らかにするため、マウス、ラット、ハムスターにおける吸収、分布、排泄について同系薬剤および macrolide系抗生剤と比較検討したのでこれらの成績について報告する。

I. 実験材料および方法

1. 使用薬剤

TMFXは米国アボット社より供与された。ofloxacin(OFLX, 第一製薬), ciprofloxacin(CPFX, バイエル薬品), enoxacin(ENX, 大日本製薬)は市販品を当社で抽出精製した。Erythromycin(EM)はSigma社より購入した。その他の試薬は市販の特級品を用いた。

2. 使用動物および飼育条件

日本エスエルシーより購入した雄性ddYマウス(体重 20~25g, 5週齢), 雄性SD系ラット(体重170~

250g, 6~8週齢)および雌性SD系ラット(体重150~170g, 7~8週齢), および井上実験動物センターより購入した雄性Syrian系ハムスター(体重75~93g)を使用した。また, 動物は環境条件の整った飼育室(室温21~25°C, 湿度50~60%)で約1週間予備飼育した。予備飼育期間中は固形飼料(CE-2: 日本クレア)を自由に摂取させた。また, 水は全ての期間自由に摂取させた。薬剤は特に断わらない限り一夜絶食後投与した。

3. 薬剤の調製と投与方法

投与液の薬剤濃度はマウスは2mg/ml, ラットとハムスターは4mg/mlを用いた。薬剤は経口, 静脈内投与のいずれも単回投与した。

経口投与の場合, TMFX, CPFは蒸留水に溶解した。一方, OFLXは0.05~0.1N HClで溶解し, 0.05N NaOHを適量加えてpH4付近に調整した。EMは少量のエタノールで溶解後, 蒸留水で所定の濃度となるよう調製した。投与液は経口ゾンデで胃内に強制投与した。

静脈内投与の場合, TMFXは5%グルコースに溶解した。TMFXは塩酸塩のため溶解液はpH4付近を示す。そこで, 0.1N NaOHを適量加えてpH5.0に調製した。OFLXは上記のごとく溶解しpH6.0に調製後, 5%グルコース溶液となるよう調製した。投与液は尾静脈より投与した。なお, ラット髄液中移行の実験では薬剤濃度は5mg/mlを用いた。

4. 試料の採取と調製

血漿: エーテル麻酔下にラットの頸静脈からヘパリン加注射筒で経時的(0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24h)に採血し(0.2~0.3ml/1回), 遠心して血漿を得た。血漿(0.1ml)に同量のアセトニトリルを加えて遠心後, その上清をフィルター濾過(0.45μm ミリポア社製)してHPLC法で測定した。

血清および臓器: エーテル麻酔下にマウスおよびラットの大腿動静脈から所定の時間(投与後 0.125, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.5, 2, 4, 6時間目)に採血した。採血管は血清分離用試験管(セバクリン, 栄研器材)を用い遠心して血清を得た。放血致死後の動物から肺, 肝臓, 腎臓を摘出し, 1/15Mリン酸緩衝液(pH7.0)にて洗浄後, 濾紙上で洗浄液を除き, 臓器重量の約4倍量の同緩衝液を加えてPolytron(Kinematika社製)でホモゲナイズし遠心した。この遠心上清を肺, 肝臓, 腎臓組織中濃度の測定試料とした。濃度の測定はいずれもbioassay法によった。ハムスターの場合, 1.5時間目の試料採取を行わなかったのを除き, 上記と同様に行った。また, EMを投与した臓器は1/10Mリン酸緩衝液(pH8.0)で試料を作製した。

髄液: エーテル麻酔下にラットの大槽内に手製の髄

液針を挿入し髄液(約10μl)を採取, この遠心上清を測定試料とした。髄液採取後, 直ちに大腿動静脈より採血し血清を得た。

尿: 薬剤投与後, ラットを一匹ずつ代謝ケージに入れ所定の時間に自然排尿を採取した。各々の測定用試料は, 測定時まで-20°Cで凍結保存した。尿中濃度は尿を1/15Mリン酸緩衝液(pH7.0)で適宜希釈した後, HPLC法またはbioassay法で測定した。

胆汁: エーテル麻酔下に, ラットの総胆管にカニューレ(Becton dickinson & Co.: No.7410)を挿入し, 半覚醒のち薬剤を経口投与した。このラットをボールマケージに固定し胆汁を経時的(投与後 2, 4, 6, 8, 24時間目)に採取した。胆汁は1/15Mリン酸緩衝液(pH7.0)で適宜希釈しbioassay法で測定した。グルクロン酸抱合体: 胆汁試料に同量の2N NaOHを加え37°C, 1時間反応した。この反応液(0.2ml)に2N HCl(0.1ml)と1/6Mリン酸緩衝液(pH7.0, 0.2ml)を加えて中和し, 1/15Mリン酸緩衝液(pH7.0)で適宜希釈しbioassay法で測定した。グルクロン酸抱合体の濃度はアルカリ処理の測定値からアルカリ未処理の測定値を差し引いて求めた。

5. 血清蛋白結合率

雄性のddY系マウス, SD系ラット, NZWウサギ, カニクイザル, 雌性のビーグル犬のブール血清および健康成人男子の血清を用いた。これらの凍結血清(-20°C)は融解後10%炭酸ガスで所定のpHに調整した。蛋白結合率の測定は遠心限外濾過法によった。すなわち, 血清1mlを37°C, 15分間予め保温後, 薬剤(0.1μg/μl)を10μl加え同温度で10分間反応した。反応液をセントリフリー(MPS-3型, Amicon社製)に移し, 予め37°Cに保温したローターで遠心(1500×g, 20分)した。濾液中の薬剤濃度をHPLC法で測定した。この測定値をX, 対照として血清の代わりに1/15Mリン酸緩衝液で同様の処理をして得られた値をYとして次式より結合率を求めた。

$$\text{結合率(\%)} = \frac{Y-X}{Y} \times 100$$

6. 薬剤の濃度測定法

1) Bioassay法: 対照薬との比較試験における血清, 組織, 尿中濃度の測定は以下の方法によった。すなわち, TMFX, OFLX, CPFは*Escherichia coli* Kpを検定菌とし, Heart infusion agarを検定培地とした³⁾。また, EMは*Micrococcus luteus* ATCC 9341を検定菌とし, Antibiotic medium 1(Difco)を検定培地とした。

2) HPLC法: ラットの髄液および尿中のTMFXの

測定は前報⁴⁾に準じた。また、ラットの血漿中TMFX濃度の測定は以下の方法によった。試料の前処理条件：カラムはShim-pack SPC-RP1 4mm IDx30 mm (島津製作所), 移動相は前処理用が0.2Mリン酸緩衝液(pH6.8), 洗浄用が0.1%トリエチルアミン:アセトニトリル=1:1(v/v), 温度は40°C, 流速1ml/min。分離用条件：カラムはTSK gel ODS 80T_M, 4.6mm IDx150mm(東ソー), 移動相は0.1Mクエン酸水溶液(pH2.3):アセトニトリル=78:22(v/v), 温度は40°C, 流速は1ml/min, 検出は蛍光光度計(島津製作所 RF-535), 励起波長280nm, 蛍光波長460nmで測定した。TMFXの検出限界は0.01 μ g/mlであった。なお, 生体試料中のTMFX濃度はHPLC法とbioassay法でよく相関することが確かめられている⁴⁾。

7. 薬動学的パラメータ

血中および組織内最高濃度(C_{max})およびその到達時間(T_{max})は実測値より求めた。濃度曲線下面積(AUC)は台形法によった。消失半減期(T_{1/2})は消失相の濃度を直線回帰して求めた。

II. 実験成績

1. 血漿中濃度

雌雄のラットにTMFXを20mg/kg 経口投与した時の血漿中濃度推移をFig.1に示した。投与直後, 雄ラットは雌ラットに比べて幾分高い濃度を示したが,

AUCの差は小さく両者の間に有意な差を認めなかった(Table 1)。以下, 本論文での動物は全て雄を用いた。ラットにTMFXを10, 20, 50 および100mg/kg 経口投与した時の血漿中濃度推移をFig.2に示した。TMFXの血漿中濃度は用量依存的に増加し, 投与量とAUCとの間には一次の相関が認められた(Fig.3)。TMFXを10mg/kg経口および静脈内投与した時の血漿中濃度推移をFig.4に示した。経口/静脈内投与の血漿中濃度のAUC比から求めた経口吸収率は60%と算定された(Table 1)。

2. 組織移行

マウス, ラット, ハムスターにTMFX, OFLX, CPFX, EMを単回経口投与した時の血清, 肺, 肝臓および腎臓組織中濃度の薬動学的パラメータをTable 2に示した。また, 血清および肺組織中濃度の推移をFig.5~7に示した。

1) 血清: マウスとラットの血清中ピーク濃度はOFLX, TMFX, CPFXの順に高い値を示した。一方, TMFXは分布相の持続が長く, AUCはTMFXが最も大きな値を示した。ハムスターのピーク濃度の高さはOFLX, TMFX, EM, CPFXの順で, AUCの大きさもこれと同じ順であった。

2) 肺: マウスとラットの肺組織中のピーク濃度はTMFXないしはOFLXが最も高く, CPFXがこれに次い

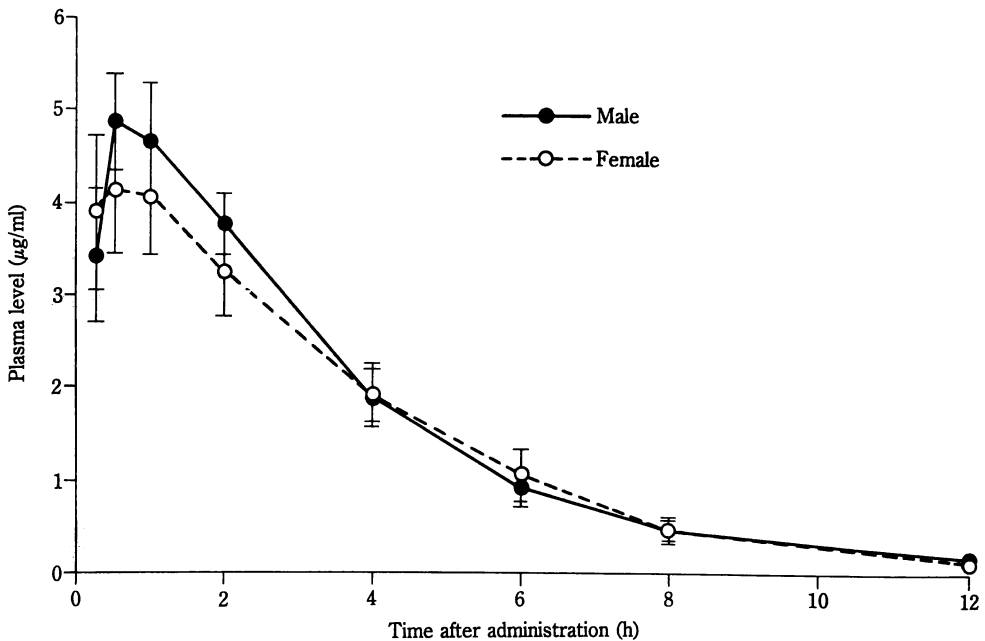


Fig. 1. Plasma levels of temafloxacin in fasting rats after oral administration at 20 mg/kg (n=5, mean \pm SD). Each value represents the mean \pm SD of 5 rats.

だ。TMFXの肺における分布相の持続は明らかに長く、AUCはTMFXが最も大きな値を示した。同様に、ハムスターにおけるピーク濃度はTMFX、OFLX、EM、CPFXXの順に高い値を示した。また、肺組織のAUCはTMFXが最も大きな値を示した。また、Fig.8にハムスターの肺組織中濃度の対血清比を示した。EMの対血清比は投与後次第に増加するのに対し、キノロン系抗菌剤はほぼ一定の値で推移した。また、TMFXの対血清比はOFLXの約2倍高い値であった。同様に、Table 2にAUCから求めたTMFXの肺組織中濃度の対血清比を示したが、いずれの動物においてもTMFXの対血清比はOFLXより大きく、TMFXは肺組織への移行が良好であることを示した。

3) 肝臓: マウス, ラットの肝臓組織中のピーク濃度はOFLXが最も高く, TMFX, CPFXXがこれに次いだ。一方, AUCはTMFXが最も高く, 次いで, OFLX, CPFXXの順であった。同様に, ハムスターのピーク濃度はOFLXが最も高く, 次いで, TMFX, CPFXX, EMの順であった。同様にAUCはOFLXが最も大きく, 次いで, TMFX, CPFXX, EMの順であった(Table 2)。

4) 腎臓: マウス, ラットの腎臓組織中のピーク濃度は, 肝臓と同様にOFLXが最も高く, 次いでTMFX, CPFXXの順であった。AUCはTMFXが最も高く, 次いで, OFLX, CPFXXの順であった。一方, ハムスターのピ

ーク濃度はOFLXが最も高く, 次いで, TMFX, EM, CPFXXの順であった。また, AUCはOFLXが最も大きく, 次いで, TMFX, CPFXX, EMの順であった(Table 2)。

3. 髄液中移行

ラットにTMFX, OFLXを10mg/kg 静脈内投与した時の血清とCSF中濃度推移をFig.9 およびTable 3に示した。TMFXの髄液中濃度の対血清比は6~7%で、

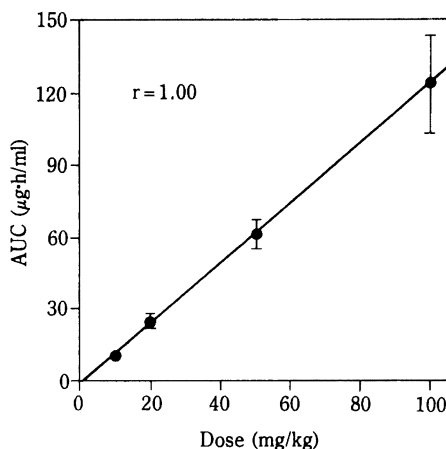


Fig. 3. Relationship between dose and AUC in fasting rats after oral administration of temafloxacin.

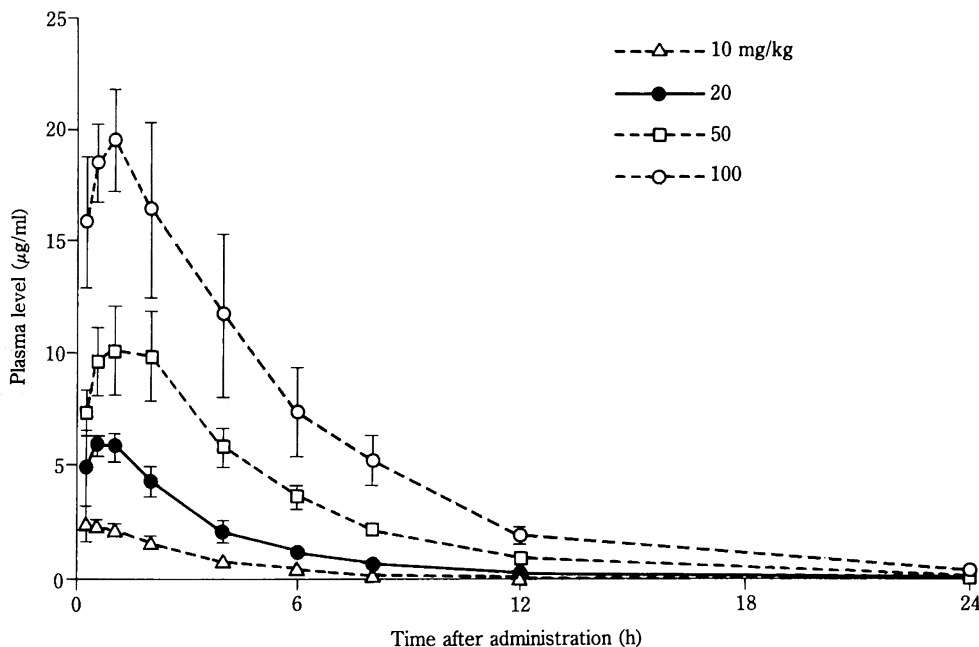


Fig. 2. Plasma levels of temafloxacin in fasting rats after oral administration at different doses (n=5, mean ± SD).

OFLXの1/2~1/3と低い値を示した。同様に、AUCより求めた髄液の対血清比はTMFXが6.5%、OFLXが15.4%とTMFXが低い値を示した。

4. 尿中排泄

雌雄のラットにTMFXを20mg/kg 経口投与した時の尿中排泄率をTable 4に示した。排泄率(0~72h)は雄ラットが46.2%、雌ラットが43.9%と雄がやや高い値を示したが有意な差を認めなかった。ラットに

TMFXを10mg/kg 静脈内と経口投与した時の尿中排泄率をTable 4に示した。排泄率(0~72h)は静脈内投与時が55.0%、経口投与時が42.0%であり、その比から経口吸収率は76%と算定された。ラットにTMFX、OFLX、CPFXを20mg/kg 経口投与した時の尿中排泄率をTable 5に示した。TMFX、OFLX、CPFXの排泄率(0~72h)は48.0、43.7、16.3%であった。

5. 胆汁中排泄

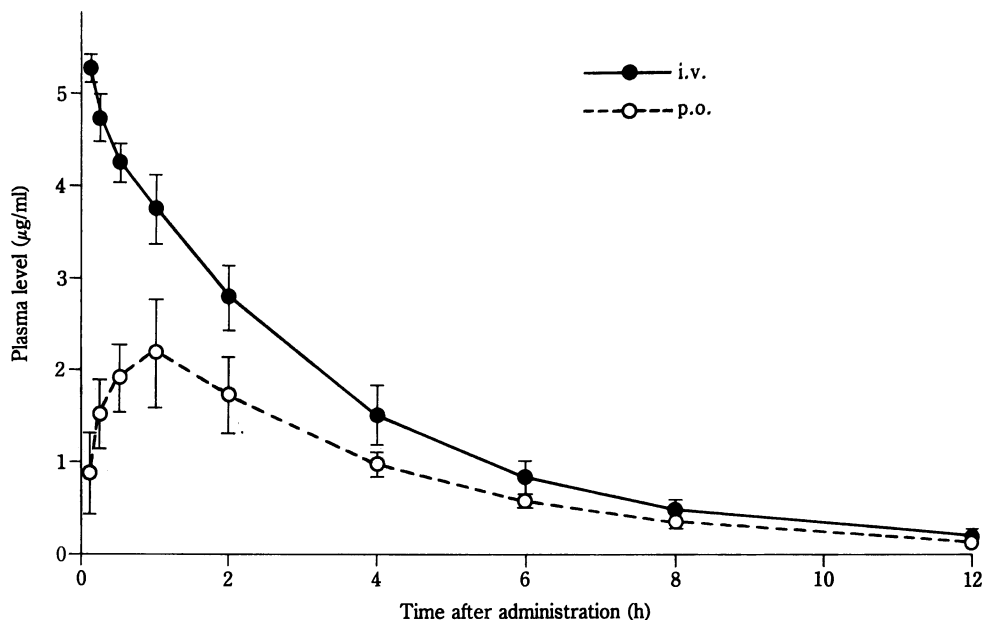


Fig. 4. Plasma levels of temafloxacin in fasting rats after administration at 10 mg/kg (n=5, mean \pm SD).

Table 1. Pharmacokinetic parameters of temafloxacin in plasma of fasting rats

Sex	Dose (mg/kg)	Route	Parameter (n=5, mean \pm SD)			
			Tmax (h)	Cmax (μ g/ml)	T _{1/2} (h)	AUC (μ g·h/ml)
M	20	p.o.	0.70 \pm 0.27	4.95 \pm 0.49	2.19 \pm 0.14	19.71 \pm 2.30
F	20	p.o.	0.55 \pm 0.27	4.43 \pm 0.60	2.16 \pm 0.07	18.44 \pm 2.87
M	10	p.o.	0.40 \pm 0.14	2.70 \pm 0.63	2.41 \pm 0.22	9.84 \pm 0.68
M	20	p.o.	0.65 \pm 0.34	6.43 \pm 0.86	2.27 \pm 0.17	24.01 \pm 3.00
M	50	p.o.	1.40 \pm 0.55	10.24 \pm 1.85	3.04 \pm 0.34	61.42 \pm 6.50
M	100	p.o.	0.90 \pm 0.22	19.84 \pm 1.75	3.37 \pm 0.47	123.21 \pm 19.78
M	10	p.o.	0.90 \pm 0.22	2.20 \pm 0.55	2.57 \pm 0.13	10.23 \pm 1.35
M	10	i.v.	—	5.27 \pm 0.15	2.50 \pm 0.23	17.32 \pm 2.40

Plasma levels were determined by the HPLC method. M: male, F: female.

Tmax, Cmax: observed value, T_{1/2}: linear regression analysis from Tmax to 12 h.

AUC: trapezoidal rule from 0 to infinity.

ラットにTMFX, OFLX, CPFX を20mg/kg 経口投与した時の胆汁中排泄率をTable 6 に示した。TMFX, OFLX, CPFX の未変化体の排泄率(0~24h)は11.1, 12.9, 4.3%であった。一方, これらの胆汁をアルカリ処理後測定した時のTMFX, OFLX, CPFX の排泄

率(0~24h)は29.8, 49.1, 20.2%であった。

6. 血清蛋白結合

TMFXの *in vitro* における血清蛋白との結合率をTable 7~9に示した。蛋白結合率はマウス 29.5%, ラット 34.1%, ウサギ 35.8%, イヌ 25.6%, サル

Table 2. Pharmacokinetic parameters of temafloxacin, ofloxacin and ciprofloxacin in fasting animals after oral administration

Animal	Tissue	Compound	Parameter (n=4, mean ± SD)			
			Tmax (min)	Cmax (µg/ml or g)	T _{1/2} (h)	AUC (µg·h/ml or g)
Mouse	serum	temafloxacin	15	8.21 ± 3.36	1.5	12.9
		ofloxacin	7.5	9.88 ± 1.91	1.3	8.9
		ciprofloxacin	7.5	4.05 ± 3.12	1.6	3.5
	lung	temafloxacin	15	11.97 ± 4.95	2.0	27.0 (2.1)*
		ofloxacin	7.5	11.08 ± 2.46	1.5	11.4 (1.3)
		ciprofloxacin	15	4.57 ± 0.84	1.9	5.4 (1.5)
	liver	temafloxacin	7.5	32.82 ± 3.94	1.8	39.4 (3.1)
		ofloxacin	7.5	40.67 ± 5.97	1.4	30.1 (3.4)
		ciprofloxacin	7.5	31.57 ± 20.67	1.2	20.4 (5.8)
	kidney	temafloxacin	7.5	18.43 ± 2.92	1.9	35.2 (2.7)
		ofloxacin	7.5	36.35 ± 12.38	1.4	29.8 (3.3)
		ciprofloxacin	15	10.05 ± 1.87	1.6	13.0 (3.7)
Rat	serum	temafloxacin	30	4.85 ± 0.75	2.1	12.7
		ofloxacin	15	7.59 ± 1.02	1.2	10.4
		ciprofloxacin	30	1.89 ± 0.31	1.3	2.8
	lung	temafloxacin	30	9.09 ± 2.15	2.2	25.9 (2.0)
		ofloxacin	15	9.78 ± 1.12	1.3	14.1 (1.4)
		ciprofloxacin	30	2.79 ± 0.11	1.2	4.2 (1.5)
	liver	temafloxacin	15	34.52 ± 9.23	1.3	67.8 (5.3)
		ofloxacin	7.5	58.21 ± 21.14	0.8	47.5 (4.6)
		ciprofloxacin	15	32.89 ± 11.70	0.9	30.5 (10.9)
	kidney	temafloxacin	30	24.74 ± 3.55	2.2	74.7 (5.9)
		ofloxacin	15	31.50 ± 1.17	1.3	41.1 (4.0)
		ciprofloxacin	30	12.03 ± 1.41	1.0	16.0 (5.7)
Hamster	serum	temafloxacin	7.5	11.82 ± 1.91	1.1	23.0
		ofloxacin	7.5	25.51 ± 8.22	1.1	30.0
		ciprofloxacin	15	1.34 ± 0.30	1.2	1.5
		erythromycin	7.5	3.91 ± 2.73	0.6	1.9
		erythromycin	7.5	3.91 ± 2.73	0.6	1.9
	lung	temafloxacin	30	21.45 ± 1.16	1.2	55.4 (2.4)
		ofloxacin	7.5	21.27 ± 1.57	1.2	36.9 (1.2)
		ciprofloxacin	7.5	3.56 ± 1.43	0.6	3.5 (2.3)
		erythromycin	7.5	8.39 ± 3.46	1.5	11.6 (6.1)
		erythromycin	7.5	8.39 ± 3.46	1.5	11.6 (6.1)
	liver	temafloxacin	7.5	49.64 ± 5.86	1.0	74.8 (3.3)
		ofloxacin	7.5	91.58 ± 22.03	1.0	102.2 (3.2)
		ciprofloxacin	7.5	35.85 ± 7.13	0.9	23.4 (15.6)
		erythromycin	7.5	20.81 ± 12.44	0.4	9.4 (4.9)
		erythromycin	7.5	20.81 ± 12.44	0.4	9.4 (4.9)
kidney	temafloxacin	7.5	41.95 ± 7.99	1.2	85.0 (3.7)	
	ofloxacin	7.5	62.79 ± 11.01	1.1	89.4 (2.8)	
	ciprofloxacin	15	11.04 ± 2.92	1.0	10.2 (6.8)	
	erythromycin	7.5	12.71 ± 6.84	0.8	9.8 (5.2)	
	erythromycin	7.5	12.71 ± 6.84	0.8	9.8 (5.2)	

Mouse, rat: 20 mg/kg, hamster: 50 mg/kg.

Serum and tissue levels were determined by the bioassay method. Tmax and Cmax: observed value.

T_{1/2}: linear regression analysis from Tmax to 6 h. AUC: trapezoidal rule from 0 to 6 h.

*Values in parenthesis show AUC ratio (tissue/serum).

29.0%, ヒト 26.6%であった。また、Table 8に示したようにTMFXの蛋白結合率は血清のpHで変動し、結合率はpHの上昇に伴い大きな値を示した。本剤の蛋白結合率は対照のキノロン剤の結合率に類似した(Table 9)。

Ⅲ. 考 察

TMFXの体内動態における特徴を明らかにすることを目的としてマウス、ラット、ハムスターにおける吸収、分布および排泄について検討した。ラットにおい

てTMFXの経口吸収は雌雄で差のないことが血漿中濃度のAUCと尿中排泄率から示された(Table 1, 4)。ラットにおけるTMFXの経口吸収は10~100mg/kgの範囲で用量依存性を示した(Fig. 3)。ラットにTMFXを10mg/kg 経口投与した時の血漿中濃度のCmax(2.2~2.7 μ g/ml, Table 1)はTMFXの臨床用量である300mg単回経口投与時の健康成人男子の血清中濃度のCmax(2.49 μ g/ml)に相当した⁹⁾。ラットにおけるTMFXの経口吸収率は経口/静脈内投与時の血漿中濃度の

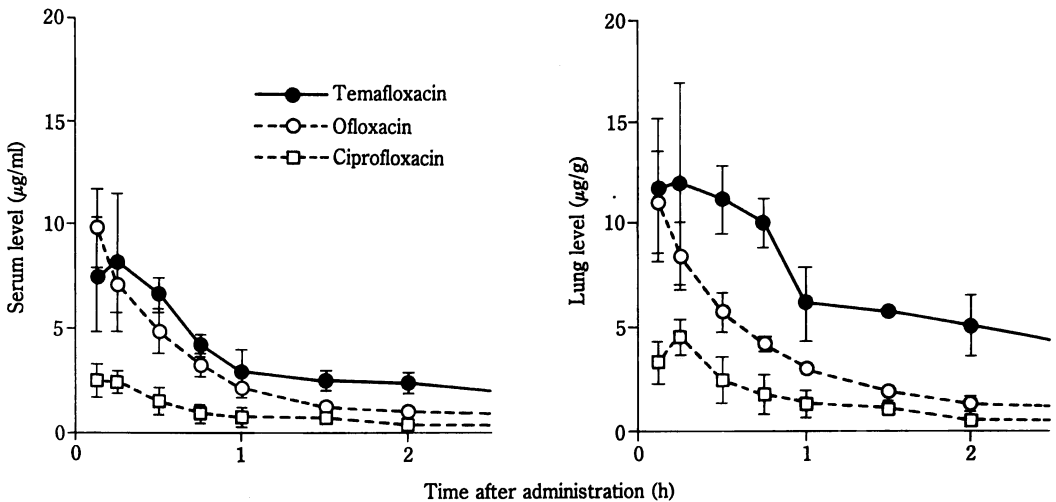


Fig. 5. Serum and lung levels in fasting mice after oral administration at 20 mg/kg (n=4, mean \pm SD).

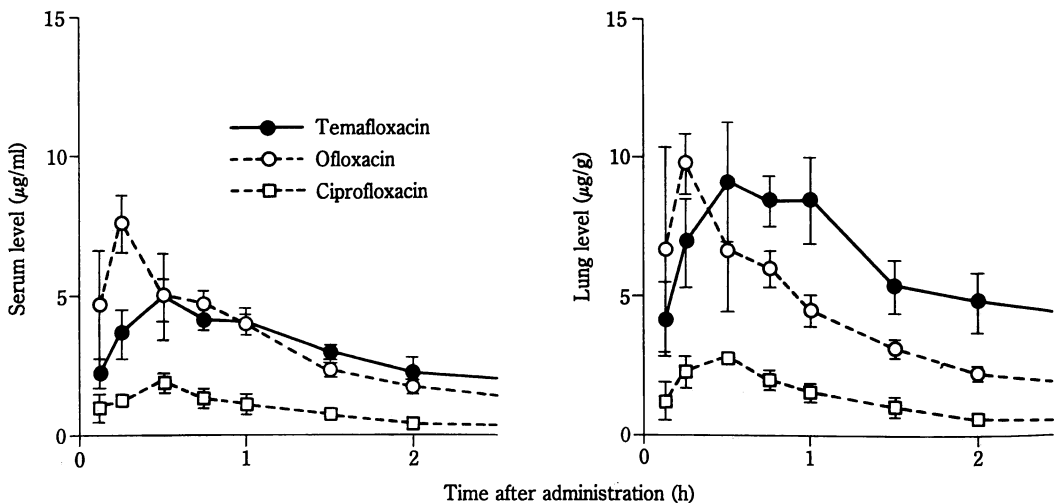


Fig. 6. Serum and lung levels in fasting rats after oral administration at 20 mg/kg (n=4, mean \pm SD).

AUC比から60%(Table 1), 尿中排泄率の比較から76%と算定された(Table 4)。

OFLX, CPFXとの比較からTMFXの Mausおよびラットにおける体内動態はOFLXのそれに類似した。これらの動物におけるTMFXの吸収速度(T_{max})はOFLX

より幾分遅く, 最高血中濃度(C_{max})はOFLXよりやや低い値を示した。一方, TMFXは血中濃度の持続が長くAUCはMausでOFLXの1.5倍, ラットでOFLXの1.2倍とやや大きな値を示した(Table 2)。MausおよびラットにおけるTMFXの臓器内濃度は肝臓が最も

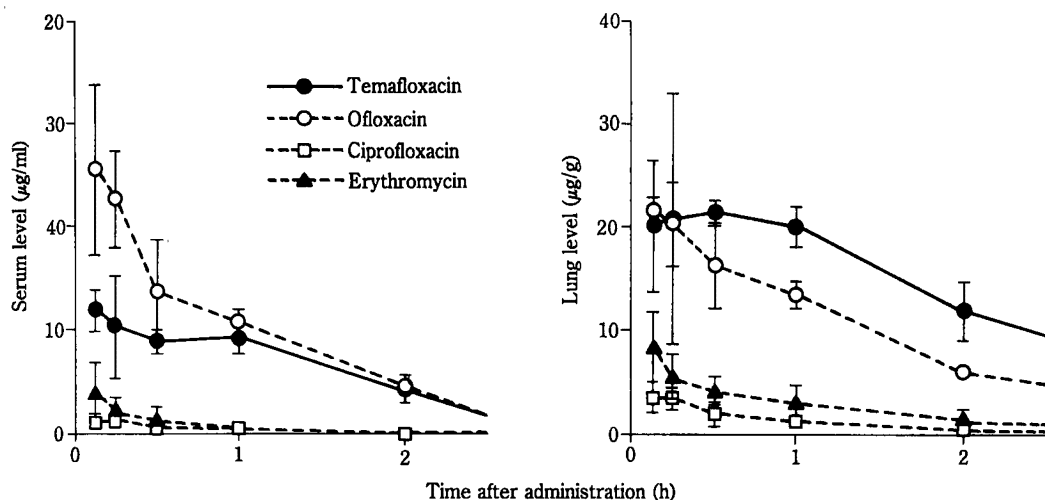


Fig. 7. Serum and lung levels in fasting hamsters after oral administration at 50 mg/kg ($n=4$, mean \pm SD).

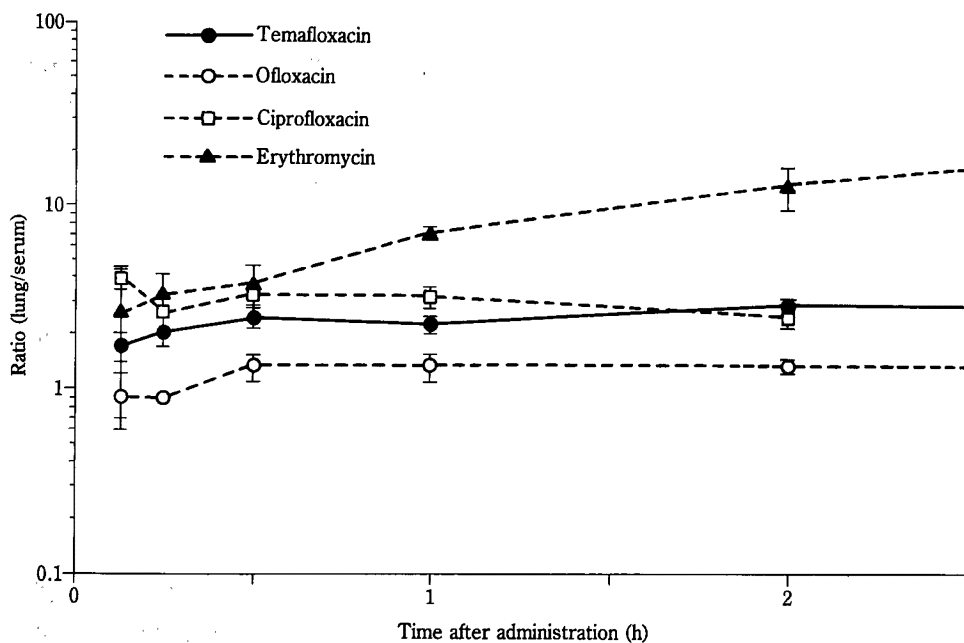


Fig. 8. Lung-to-serum concentration ratios in fasting hamsters after oral administration at 50 mg/kg ($n=4$, mean \pm SD).

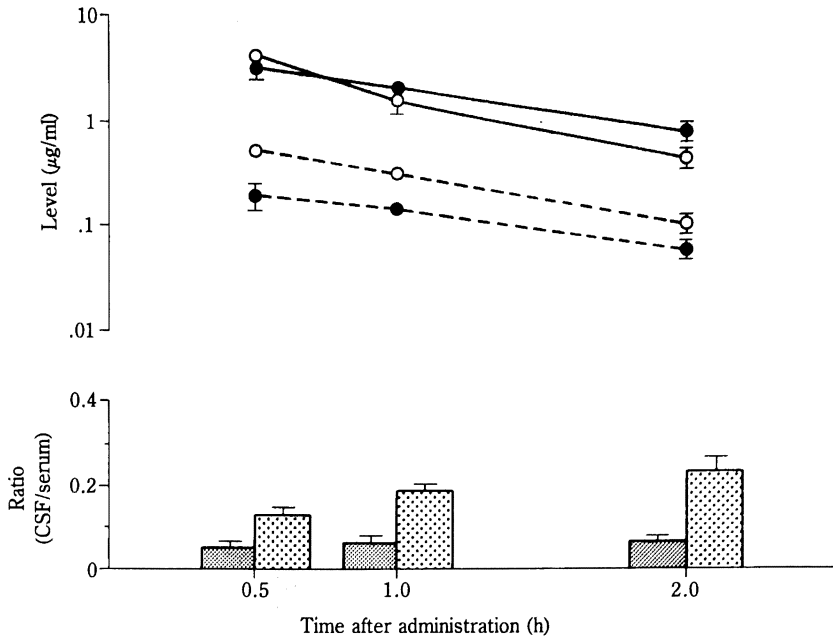


Fig. 9. Serum and cerebrospinal (CSF) levels of temafloxacin and ofloxacin in non-fasting rats after i.v. injection at 10 mg/kg (n=5, mean \pm SD)

Temafloxacin: Serum (—●—), CSF (-●-), Ratio (▨)

Ofloxacin : Serum (-○-), CSF (-○-), Ratio (▤)

Table 3. Serum and cerebrospinal (CSF) levels of temafloxacin and ofloxacin in non-fasting rats after i.v. injection at 10 mg/kg

Compound	Body fluid	Time after injection (h)			AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$)
		0.5	1.0	2.0	
Temafloxacin	serum	3.36 ± 0.62	2.18 ± 0.16	0.86 ± 0.15	5.09
	CSF	0.20 ± 0.06	0.15 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.33
	ratio	5.7 ± 0.9	7.0 ± 1.2	7.3 ± 1.0	6.5
Ofloxacin	serum	3.90 ± 0.34	1.63 ± 0.33	0.48 ± 0.09	4.88
	CSF	0.54 ± 0.03	0.32 ± 0.04	0.11 ± 0.02	0.75
	ratio	13.9 ± 1.3	19.8 ± 1.6	24.4 ± 3.4	15.4

Serum and CSF levels ($\mu\text{g}/\text{ml}$, n=5 mean \pm SD) were determined by bioassay and the HPLC method, respectively. Ratio: CSF/Serum \times 100, AUC: trapezoidal rule from 0 to 2 h.

Table 4. Urinary excretion of temafloxacin in fasting rats

Sex	Dose (mg/kg)	Route	Cumulative recovery rate (%), mean \pm SD n=5				
			0~4 h	0~8 h	0~24 h	0~48 h	0~72 h
M	20	p.o.	28.4 ± 5.1	40.6 ± 4.3	45.0 ± 4.8	45.8 ± 5.5	46.2 ± 5.9
F	20	p.o.	30.0 ± 3.1	39.0 ± 3.4	43.5 ± 3.6	43.7 ± 3.5	43.9 ± 3.5
M	10	p.o.	31.1 ± 1.4	39.8 ± 1.8	41.8 ± 1.9	42.0 ± 1.9	42.0 ± 1.9
M	10	i.v.	43.6 ± 4.4	51.7 ± 4.0	54.7 ± 3.9	54.9 ± 3.9	55.0 ± 3.9

Urinary levels were determined by the HPLC method. M: male, F: female.

高く, ついで腎臓, 肺の順であった。また, 肝, 腎臓内濃度は血清中濃度を反映し, CmaxはOFLX, TMFX ないしはCPFXの順に高く, AUCはTMFX, OFLX, CPFXの順に大きな値を示した(Fig. 5, 6, Table 2)。

マウス, ラット, ハムスターにおいて肺内濃度のCmaxはTMFXとOFLXではほぼ同じであったが, AUCおよび対血清比はTMFXが大きな値を示した(Table 2, Fig. 8)。また, TMFXの肺内濃度の推移は他剤に比べて高い値を示した(Fig. 5~7)。この理由の一つとしてTMFXの肝臓における持続時間(T_{1/2})が長いことが考えられる。肺組織はアミンなど塩基性物質の捕捉臓器

で, その機序は肺実質膜, 肺胞マクロファージ, 肺 surfactantに存在するphosphatidylserine(PhS)のカルボニル基と塩基性物質との結合によること, また, その結合は肺組織中のPhS含有量に依存することが知られている⁶⁾。TMFXの塩基性側鎖であるピペラジニル基に基づく解離常数(pKa8.9)はOFLXのそれ(pKa7.9)に比べて大きい⁷⁾。このことは生理的pHの条件下でTMFXの解離した分子の割合がOFLXのそれより大きいことを意味している。肝臓内の持続時間に加えて, この解離型分子と肺組織のPhSとの結合が肺内での持続に関連していることが考えられる。

Table 5. Urinary excretion of temafloxacin, ofloxacin and ciprofloxacin in fasting rats after oral administration at 20 mg/kg

Compound	Cumulative recovery rate (%), mean ± SD n=5				
	0~4 h	0~8 h	0~24 h	0~48 h	0~72 h
Temafloxacin	32.8 ± 8.2	43.5 ± 5.9	47.8 ± 5.3	48.0 ± 5.3	48.0 ± 5.3
Ofloxacin	30.9 ± 2.4	37.4 ± 2.5	43.3 ± 1.7	43.6 ± 1.7	43.7 ± 1.8
Ciprofloxacin	13.0 ± 4.5	14.8 ± 3.8	15.9 ± 3.8	16.2 ± 3.8	16.3 ± 3.7

Urinary levels were determined by bioassay.

Table 6. Biliary excretion of temafloxacin, ofloxacin and ciprofloxacin in fasting rats after oral administration at 20 mg/kg

Compound	Alkaline treatment	Cumulative recovery rate (%), mean ± SD n=6				
		0~2 h	0~4 h	0~6 h	0~8 h	0~24 h
Temafloxacin	-	4.0 ± 2.1	6.1 ± 2.3	7.5 ± 2.0	8.3 ± 1.8	11.1 ± 0.9
Ofloxacin	-	6.5 ± 2.3	9.7 ± 1.8	11.2 ± 1.9	11.8 ± 1.9	12.9 ± 1.9
Ciprofloxacin	-	1.5 ± 1.5	2.6 ± 1.6	3.2 ± 1.6	3.5 ± 1.5	4.3 ± 1.3
Temafloxacin	+	10.6 ± 5.8	17.7 ± 6.5	22.0 ± 5.7	24.7 ± 5.7	29.8 ± 3.8 (18.7)*
Ofloxacin	+	24.2 ± 8.3	39.6 ± 7.4	44.0 ± 8.3	45.7 ± 8.6	49.1 ± 8.7 (36.2)
Ciprofloxacin	+	7.4 ± 6.4	12.4 ± 6.5	15.6 ± 5.9	17.0 ± 5.4	20.2 ± 5.4 (15.9)

Biliary levels were determined by bioassay.

Alkaline treatment: sample were treated with 1N NaOH at 37°C for 1 h.

*Values in parentheses show the amount of glucuronides: (alkaline treatment) - (non-alkaline treatment).

Table 7. Serum protein binding of temafloxacin (*in vitro*)

Species	Binding rate (%)
Mouse	29.5 ± 0.6
Rat	34.1 ± 1.0
Rabbit	35.8 ± 1.2
Dog	25.6 ± 2.5
Monkey	29.0 ± 2.3
Human	26.6 ± 1.1

Serum: pH7.4 adjusted with CO₂ before reaction.

Drug concentration: 1 μg/ml.

Method: Centrifugal ultrafiltration.

Assay: HPLC, mean ± SD, n=5

Table 8. Effect of serum pH on protein binding of temafloxacin (*in vitro*)

Serum pH	Binding rate (%)
7.4	27.4 ± 0.4
7.7	31.6 ± 0.7
8.0	34.8 ± 0.4

Human serum: pH was adjusted with CO₂ before reaction.

Drug concentration: 1 μg/ml.

Method: Centrifugal ultrafiltration.

Assay: HPLC, mean ± SD, n=5

キノロン系抗菌剤は中枢系の副作用が懸念されるため臨床での使用は慎重を要する。この副作用に関連して、ラットを用いTMFXを静脈内投与した時の髄液中への移行を検討した。TMFXの髄液中濃度はOFLXに比べて低い(Fig. 9, Table 3)。髄液への薬剤の移行は血液・髄液関門の経路と血液・脳関門から髄液への経路があるが、Davisonら⁸⁾は後者の関与が大きいとしている。血液・脳関門は疎水性が高いため、脂溶性が高くイオン化し難い物質の透過は良好である⁹⁾。分配係数(p)を比較するとTMFXの脂溶性(p=0.39)はOFLX(p=0.25)に比べて若干高い¹⁰⁾。しかし、前述の如くTMFXは生理的pHでイオン型分子の割合が大きいためOFLXと比べて関門を通過し難いものと考えられる。

ラットにTMFX, OFLX, CPFX 20mg/kgをそれぞれ経口投与した時、TMFXの尿中排泄率(48.0%)と未変化体の胆汁中排泄率(11.1%)はCPFX(4.3%)より高くOFLX(12.9%)の排泄率に近い値であった(Table 6)。¹⁴C標識化合物を用いたラットの実験¹¹⁾から胆汁中の主要代謝物はグルクロン酸抱合体であること、また、胆汁中に排泄された一部は腸肝循環¹²⁾することが確認されている。胆汁中におけるTMFXのグルクロン酸抱合体の存在比(抱合体/未変化体:1.7)はOFLX(2.8), CPFX(3.7)に比べて少ない(Table 6)。この結果よりTMFXは対照薬に比べて肝臓での代謝を受け難いことが示唆された。

TMFXのヒト血清蛋白結合率(*in vitro*)は約27%で動物のそれと近似の値を示した(Table 7)。この結合率は測定時の血清pHにより変動しpHの上昇に伴い大きな値を示した(Table 8)。生理的pHにおけるTMFXのヒト血清蛋白結合率はOFLX, CPFX, ENXのそれに類似した(Table 9)。

以上、TMFXの動物における吸収、分布、排泄について対照薬と比較検討したが、これらの結果はOFLXのそれとよく似ていた。若干の相違点として肺組織での持続が長いことと髄液への移行が低い点が上げられ

るが、その理由としてTMFXとOFLXとの物理化学的性質(pKa)の違いが反映したものと考えられた。

文 献

- 1) 松下忠弘, 押田忠弘, 恩田時男, 内藤真智子, 山口東太郎: Temafloxacinの*in vitro* 抗菌作用。Chemotherapy 41 (S-5): 67~80, 1993
- 2) Hardy D J, Swanson R N, Hensey D M, Ramer N R, Bower R R, Hanson C W, Chu D T W and Fernandes P B: Comparative antibacterial activities of temafloxacin hydrochloride (A-62254) and two reference fluoroquinolones. Antimicrob Agents Chemother 31:1768~1774, 1987
- 3) 武田勝男, 佐久間由光, 矢野 茂, 小山八重子, 山口東太郎: Temafloxacin のbioassay法による体液内濃度測定法。Chemotherapy 41 (S-5): 116~121, 1993
- 4) 武田勝男, 矢野 茂, 佐久間由光, 山口東太郎: Temafloxacin のHPLC法による体液内濃度測定法。Chemotherapy 41 (S-5): 122~127, 1993
- 5) 中島光好, 植松俊彦, 長嶋 悟, 小菅和仁, 金丸光隆: Temafloxacin の臨床第1相試験。Chemotherapy 41 (S-5): 242~259, 1993
- 6) Nishiura A, Murakami T, Higashi Y and Yata N: Role of phosphatidylserine in the cellular and subcellular lung distribution of quinidine in rats. Pharm Res 5: 209~213, 1988
- 7) 佐々木次郎: Temafloxacinの口腔外科における使用成績と関連した成績(統一)。田辺製薬社内資料
- 8) Davson H: The blood brain barrier. J Physiol 255: 1~28, 1976
- 9) Scheld W M: Drug delivery to the central nervous system: general principles and relevance to therapy for infections of the central nervous system. 11 (Suppl 7): S1667~S1690, 1989
- 10) Nakanishi N, Yoshida S, Wakebe H, Inoue M, Yamaguchi T and Mitsuhashi S: Mechanisms of clinical resistance to fluoroquinolones in *Staphylococcus aureus*. 35: 2562~2567, 1991
- 11) 河野通弘, 児玉裕彦, 遠藤美香, 大塚峯三, 高市雄之: [¹⁴C]Temafloxacinのラットにおける代謝物の単離, 同定および定量。Chemotherapy 41 (S-5): 164~176, 1993
- 12) 遠藤美香, 河野通弘, 山田泰弘, 大塚峯三, 高市雄之, 相原道明: [¹⁴C]Temafloxacinのラットにおける吸収, 分布および排泄。Chemotherapy 41 (S-5): 140~154, 1993

Table 9. Protein binding of quinolones (*in vitro*)

Compound	Binding rate (%)
Temafloxacin	26.9 ± 0.7
Ofloxacin	20.1 ± 1.0
Ciprofloxacin	28.1 ± 1.6
Enoxacin	28.1 ± 4.5

Human serum: pH7.4 adjusted with CO₂ before reaction.

Drug concentration: 1 μg/ml.

Method: Centrifugal ultrafiltration.

Assay: HPLC, mean ± SD, n=5

Pharmacokinetics of temafloxacin in mice, rats and hamsters

Katsuo Takeda, Shigeru Yano, Yoshimitsu Sakuma,
Yaeko Koyama and Totaro Yamaguchi
Pharmacological Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co. Ltd.
2-2-50 Kawagishi, Toda 335, Japan

The pharmacokinetics of temafloxacin (TMFX) were studied and compared with those of ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX) and erythromycin (EM) in mice, rats and hamsters.

1. In rats orally dosed with 20 mg/kg, there were no significant differences between males and females in the plasma AUC or in urinary recoveries.

2. In rats, the plasma AUCs were linearly related to oral dose in the range of 10~100 mg/kg.

3. In rats, the oral bioavailability of TMFX was 60% from the p.o./i.v. AUC ratio and 76% from the p.o./i.v. urinary recovery ratio.

4. In mice and rats orally dosed with 20 mg/kg, the peak serum levels were in the order of OFLX, TMFX and CPFX, whereas the serum AUCs were in the order of TMFX, OFLX and CPFX. The peak lung levels were in the order of TMFX and/or OFLX and CPFX, whereas the lung AUCs were in the order of TMFX, OFLX and CPFX.

5. In hamsters orally dosed with 50 mg/kg, the peak serum levels were in the order of OFLX, TMFX, EM and CPFX and the serum AUCs were in the same order. In contrast, the peak lung levels were in the order of TMFX, OFLX, EM and CPFX, whereas the lung AUCs were in the order of TMFX, OFLX, CPFX and EM. The lung-to-serum concentration ratios of TMFX were 2-fold higher than those of OFLX.

6. In rats intravenously dosed with 10 mg/kg, the cerebrospinal fluid (CSF)-to-serum concentration ratios of TMFX were 1/2 to 1/3 of those of OFLX.

7. In rats orally dosed with 20 mg/kg, the recoveries of TMFX in urine and bile were similar to those of OFLX.

8. Binding rates to the serum proteins of mice, rats, rabbits, dogs, monkeys and humans were 29.5, 34.1, 35.8, 25.6, 29.0 and 26.6%, respectively.